Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 18, No. 5, Dec- Jan 2022, p. 699-709

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۱۸، شماره ۵، آذر- دی ۱۴۰۱ ص.۷۰۹-۶۹۹

Homepage: http://ifstrj.um.ac.ir

Full Research Paper

Evaluation of total phenols and flavonoids, antioxidant power, and antimicrobial activity of *Levisticum officinale* Koch essential oil against some spoilage fungi causing apple and orange rot

Mostafa, Rahmati-Joneidabad[1*], Behrooz Alizadeh Behbahani[2], Mohammad Noshad[3]

Received: 2022.01.14
Revised: 2022.01.20
Accepted: 2022.01.25
Available Online: 2022.01.25

How to cite this article:
Rahmati-Joneidabad, M., Alizadeh Behbahani, B., Noshad, M. (2022). Evaluation of total phenols and flavonoids, antioxidant power, and antimicrobial activity of *Levisticum officinale* Koch essential oil against some spoilage fungi causing apple and orange rot. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*. 18 (5), 699-709.

Abstract

Introduction: Economic losses can occur due to the growth of fungi on foods that lead to food spoilage and plant diseases. Fruits and vegetables are often exposed to microbial activity, caused by pathogenic fungi, during post-harvest storage. Diseases of food origin are a growing public health problem. Thus, food safety has become a major public concern as microbial contamination increases the risk of foodborne illnesses and shortens the shelf life of foods. Infection with fungi such as *Aspergillus*, *Rhizopus*, and *Penicillium* species is considered as the primary cause of rapid spoilage of fresh produce, which reduces their quality and shelf life. Synthetic fungicides have been applied to solve this problem for many years. Nonetheless, the adverse effects of synthetic chemicals on human health and the emergence of fungicide-resistant strains have motivated the scientists and food industries to find out safe preservatives to control postharvest rot/diseases. On this point, natural antimicrobial agents such as plant extracts and essential oils are gaining more and more interest. In this study, we used *Levisticum officinale* Koch essential oil, which its antimicrobial and antioxidant activity has been reported in literatures.

Materials and Methods: *L. officinale* Koch essential oil was obtained by hydrodistillation method and its total phenol content, total flavonoids, antioxidant activity (based on DPPH and ABTS free radical scavenging and β-carotene bleaching tests) and its antifungal effect against fungi causing apple and orange rotting (*Alternaria alternata*, *Penicillium expansum*, *Penicillium digitatum*, *Penicillium italicum*, and *Botrytis cinerea*) were examined according to antimicrobial tests of disk diffusion agar, well diffusion agar, minimum inhibitory concentration, and minimum fungicidal concentration.

Results and Discussion: *L. officinale* Koch essential oil contained 61.27 ± 0.34 mg GAE/g and 20.14 ± 0.21 mg QE/g total phenol and flavonoids, respectively. Its antioxidant activity, based on DPPH free radical scavenging, ABTS free radical scavenging, and β-carotene bleaching inhibition were 69.72 ± 0.65%, 78.54 ± 0.3% and 57.50 ± 0.41%, respectively. *L. officinale* Koch essential oil was effective against all fungal species and the highest susceptibility was observed for *Penicillium expansum*. According to the results, *L. officinale* Koch essential oil can be used as a natural antifungal agent to prevent post-harvest diseases of fruits and vegetables.

---

1. Assistant Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.
2. Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.
3. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.
(*Corresponding Author Email: Rahmati@asnrukh.ac.ir)
DOI: 10.22067/IFSTRJ.2022.74735.1136

Keywords: *Levisticum officinale* Koch; Essential oil; Antioxidant effect; Antifungal effect; Natural preservative.

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۱۸، شماره ۵، آذر- دی ۱۴۰۱ ص.۷۰۹-۶۹۹

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 18, No. 5, Dec- Jan 2022, p. 699-709

مقاله علمی-پژوهشی

ارزیابی فنول و فلاونوئید کل، قدرت آنتی‌اکسیدانی و فعالیت ضدمیکروبی اسانس انجدان رومی بر برخی از قارچ‌های عامل پوسیدگی و فساد میوه سیب و پرتقال

مصطفی رحمتی جنیدآباد*[۱]- بهروز علیزاده بهبهانی[۲]- محمد نوشاد[۳]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۰/۲۴
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۱۰/۳۰
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۱/۰۵

چکیده

در این مطالعه، اسانس انجدان رومی (*Levisticum officinale* Koch) توسط روش تقطیر با آب استخراج شد و سپس محتوای فنول تام، فلاونوئید تام، فعالیت آنتی‌اکسیدانی (بر پایه مهار رادیکال آزاد DPPH، رادیکال آزاد ABTS و زوال رنگ بتا-کاروتن) و اثر ضدقارچی آن علیه قارچ‌های عامل پوسیدگی و فساد سیب و پرتقال (*آلترناریا آلترناتا*، *پنی‌سیلیوم اکسپانسوم*، *پنی‌سیلیوم دیجیتاتوم*، *پنی‌سیلیوم ایتالیکوم* و *بوتریتیس سینه‌را*) مطابق آزمون‌های ضدمیکروبی دیسک دیفیوژن آگار، چاهک آگار، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی مورد بررسی قرار گرفت. اسانس انجدان رومی به‌ترتیب حاوی ۰/۳۴ mg GAE/g ± ۶۱/۲۷ و ۰/۲۱ mg QE/g ±۲۰/۱۴ فنول و فلاونوئید تام بود. فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن بر پایه مهار رادیکال آزاد DPPH، رادیکال آزاد ABTS و زوال رنگ بتا-کاروتن به‌ترتیب ۰/۶۵ ±۶۹/۷۲ درصد، ۰/۳ ±۷۸/۵۴ درصد و ۰/۴۱ ±۵۷/۵۰ درصد بود. اسانس انجدان رومی در برابر تمامی گونه‌های قارچی تأثیرگذار بود و بیشترین حساسیت در مورد قارچ *پنی‌سیلیوم اکسپانسوم* مشاهده شد. مطابق نتایج، اسانس انجدان رومی را می‌توان به‌عنوان ضدقارچ طبیعی جهت جلوگیری از پوسیدگی و فساد میوه‌ها و سبزیجات پس از برداشت استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: انجدان رومی، اسانس، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، اثر ضدقارچی، نگهدارنده طبیعی.

مقدمه

زیان‌های اقتصادی می‌تواند به دلیل رشد قارچها روی مواد خوراکی که منجر به فساد مواد غذایی و بیماری‌های گیاهی شود، رخ دهد. در کشاورزی، در طول ذخیره‌سازی پس از برداشت، میوه‌ها و سبزیجات اغلب در معرض فعالیت میکروبی می‌باشند که توسط قارچهای بیماری‌زا ایجاد می‌شود (Vehapi et al., 2020). میوه سیب با ۳/۵ میلیون تن تولید سالیانه، رتبه اول تولید را در بین محصولات باغی دارد. با این‌حال، این میوه پس از برداشت به پوسیدگی قارچی توسط جنس‌های *آلترناریا*، *پنی‌سیلیوم* و *بوتریتیس* بسیار حساس است (Nikkhah et al., 2019). مرکبات، بعنوان بخشی از رژیم غذایی انسان، مواد مغذی مختلفی از جمله ویتامین ث، اسید فولیک، پتاسیم، فلاونوئیدها، پکتین و فیبر غذایی را همراه با اسانس‌های خوراکی مورد استفاده برای طعم‌دهی فراهم می‌کنند (Rossi and Palacios, 2013). با این‌حال، مرکبات به دلیل رطوبت بالا و ترکیب مواد مغذی، مستعد حمله توسط قارچهایی هستند که باعث ایجاد بیماری‌هایی مانند پوسیدگی انتهای ساقه، کپک آبی و کپک سبز و از دست دادن طعم در طول ذخیره‌سازی پس از برداشت می‌شوند (Chien and Chou, 2006).

بیماری‌های با منشأ غذایی یک مشکل رو به رشد بهداشت عمومی در سراسر جهان به‌شمار می‌رود. بنابراین، ایمنی مواد غذایی به یک نگرانی عمومی مهم تبدیل شده است، زیرا آلودگی میکروبی نه تنها خطر ابتلا به بیماری‌های با منشأ غذا را افزایش می‌دهد، بلکه عمر مفید مواد غذایی را نیز کاهش می‌دهد (Ghadimi et al., 2016; Pires et al., 2021). آلودگی به قارچهایی مانند گونه‌های *ریزوپوس*،

۱- استادیار، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران.
۲ و ۳- به‌ترتیب استادیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران.
۳- دانشیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران.
* - نویسنده مسئول: Email: Rahmati@asnrukh.ac.ir
DOI: 10.22067/IFSTRJ.2022.74735.1136

آسپرژیلوس و *پنی‌سیلیوم* عامل اصلی فساد سریع محصولات تازه است که بر کیفیت آن‌ها تأثیر می‌گذارد و ماندگاری آن‌ها را کوتاه می‌کند. سال‌هاست که از قارچ‌کش‌های مصنوعی برای حل این مشکل استفاده می‌شود. با این‌حال، ارتباط مواد شیمیایی مصنوعی با اثرات نامطلوب بر سلامت انسان و توسعه سویه‌های مقاوم به قارچ‌کش، جستجو برای استراتژی‌های جدید به‌منظور کنترل پوسیدگی پس از برداشت را سبب شده است. در سال‌های اخیر، بسیاری از پژوهشگران بر جستجوی عوامل ضدمیکروبی طبیعی تمرکز کرده‌اند و عصاره‌های گیاهی و اسانس‌ها اهمیت بیشتری پیدا می‌کنند (Tejeswini et al., 2014).

در میان چندین گونه از گیاهان معطر مورد استفاده در آشپزی، انجدان رومی (*Levisticum officinale* Koch) زمانی بسیار شناخته شده بود و به‌طور قابل‌توجهی به‌عنوان ادویه در سوپ‌ها، خورش‌ها، غذاهای گوشتی و غیره استفاده می‌شد. انجدان رومی یک گیاه بومی جنوب غربی آسیا و جنوب اروپا است که به‌عنوان یک گیاه دولپه‌ای چند ساله از خانواده چتریان (*Apiaceae*) طبقه‌بندی شده و عمدتاً به دلیل خواص معطر آن استفاده می‌شود (Spréa et al., 2020). اسانس انجدان رومی در صنایع نوشیدنی، غذایی، عطر و تنباکو مورد استفاده قرار گرفته است. ترکیب شیمیایی اسانس انجدان رومی شامل لیگوستیلید، پنتیل سیکلوهگزان، مشتقات فتالید و ترپنوئیدها از جمله آلفا و بتا-پینن، آلفا و بتا-فلاندرن، گاما-ترپینن، کارواکرول، اوژنول و آلفا-ترپینول می‌باشد (Miran et al., 2018b). علاوه بر این، فعالیت ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی اسانس انجدان رومی در پژوهش‌های مختلف گزارش شده است (Chaudhari et al., 2021; Jakubczyk et al., 2020; Miran et al., 2018a). در این پژوهش، محتوای فنول کل، فلاونوئید کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فعالیت ضدقارچی اسانس انجدان رومی در برابر قارچ‌های عامل پوسیدگی و فساد میوه سیب و پرتقال مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش از معرف فولین-سیوکالتو، لینولئیک اسید، بتا-کاروتن، رادیکال آزاد ABTS[1]، رادیکال آزاد DPPH[2] (سیگما، آمریکا) و محیط‌های کشت سابروز دکستروز براث و سابروز دکستروز آگار (مرک، آلمان) استفاده گردید.

استخراج اسانس انجدان رومی

اندام‌های هوایی گیاه جمع‌آوری شده (۱۵۰ گرم) توسط آسیاب آزمایشگاهی پودر گردید و سپس اسانس‌گیری با کمک روش تقطیر با آب توسط دستگاه کلونجر به مدت ۳ ساعت انجام گردید. در نهایت، اسانس توسط سولفات سدیم بدون آب خشک و سپس در ویال‌های تیره در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (Miran et al., 2018a).

اندازه‌گیری فنول تام

محتوای فنول کل اسانس مطابق روش Barzegar و همکاران (۲۰۲۰)، اندازه‌گیری شد. برای این منظور، ۰/۱ میلی‌لیتر اسانس (۰/۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) یا اسید گالیک (۰/۵ تا ۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) با ۱ میلی‌لیتر معرف فولین-سیوکالتیو (۱۰ درصد حجمی بر میلی‌لیتر) ترکیب گردید و سپس ۰/۳ میلی‌لیتر کربنات سدیم (۱۰ درصد وزنی/حجمی) به محلول اضافه گردید. محلول حاصل به مدت ۲ ساعت در دمای محیط نگهداری شد و سپس جذب آن در طول‌موج ۷۵۶ نانومتر ثبت شد. محتوای فنول اسانس در نهایت به صورت میلی‌گرم اسید گالیک در هر گرم اسانس (mg GAE/g) بیان شد (Barzegar et al., 2020).

اندازه‌گیری فلاونوئید تام

محتوای فلاونوئید کل اسانس بر اساس روش Noshad و همکاران (۲۰۲۱)، اندازه‌گیری شد. به‌طور خلاصه، ۰/۵ میلی‌لیتر نمونه با ۳۰۰ میکرولیتر محلول نیتریت سدیم ترکیب و مخلوط به مدت ۱۰ ثانیه همزده شد. پس از نگهداری به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق، محلول آلومینیوم کلراید، هیدروکسید سدیم و آب مقطر به آن اضافه شد و به مدت ۱۰ ثانیه همزده شد. جذب مخلوط در طول‌موج ۵۱۰ نانومتر قرائت گردید و محتوای فلاونوئید کل به صورت میلی‌گرم کوئرستین در هر گرم از اسانس (mg QE/g) بیان شد (Noshad et al., 2021).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی

فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس مطابق روش‌های مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و ABTS و زوال رنگ بتا-کاروتن/لینولئیک اسید بررسی گردید. فعالیت مهار رادیکال DPPH بر اساس روش ارائه شده توسط Yeganegi و همکاران (۲۰۱۸)، اندازه‌گیری شد. به‌طور خلاصه، اسانس گیاه در متانول حل شد تا غلظت ۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به دست آید. سپس ۱ میلی‌لیتر از اسانس با ۱ میلی‌لیتر محلول متانولی رادیکال DPPH (۰/۲ میلی‌مولار) مخلوط شد. پس از ۳۰ دقیقه نگهداری در دمای اتاق و در مکان تاریک، جذب محلول در طول‌موج

1 (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid))

2 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری شد. توانایی مهار رادیکال با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید (Yeganegi et al., 2018):

$$Inhibition\ (\%) = [(A_{blank}-A_{sample})/A_{sample}] \times 100 \qquad (۱)$$

روش Alizadeh Behbahani و همکاران (۲۰۱۹)، برای ارزیابی فعالیت مهار رادیکال آزاد ABTS اسانس مورد استفاده قرار گرفت. کاتیون‌های ABTS ابتدا با واکنش حجم‌های یکسان محلول ABTS (۷ میلی‌مولار) و پرسولفات پتاسیم (۲/۴۵ میلی‌مولار) و پس از نگهداری محلول به‌دست‌آمده در دمای اتاق، در شرایط تاریک به مدت ۱۶ ساعت، تولید شدند. سپس محلول ABTS با متانول تا رسیدن به جذب ۰/۷ در طول‌موج ۷۳۴ نانومتر رقیق گردید. پس از آن، ۳/۹ میلی‌لیتر از محلول رقیق شده رادیکالی ABTS با ۰/۱ میلی‌لیتر اسانس یا متانول (به‌عنوان نمونه شاهد) مخلوط شد. محلول به مدت ۶ دقیقه در دمای محیط نگهداری شد و سپس جذب در طول‌موج ۷۳۴ نانومتر اندازه‌گیری گردید. فعالیت مهار رادیکال آزاد ABTS اسانس بر اساس رابطه زیر محاسبه شد (Alizadeh Behbahani et al., 2019):

$$Inhibition\ (\%) = [(A_{blank}-A_{sample})/A_{sample}] \times 100 \qquad (۲)$$

اثر بازدارندگی اسانس در برابر زوال رنگ محلول بتا-کاروتن/لینولئات از طریق روش اسپکتروفوتومتری (در ۴۹۰ نانومتر) و مطابق روش Dapkevicius و همکاران (۱۹۹۸) بررسی گردید:

$$Inhibition\ (\%) = [(AA_{(120)} - AC_{(120)})/(AC_{(0)} - AC_{(120)})] \times 100 \qquad (۳)$$

در این رابطه، $AA_{(120)}$ جذب نمونه پس از زمان گرمخانه‌گذاری ۱۲۰ دقیقه، $AC_{(0)}$ و $AC_{(120)}$ به‌ترتیب جذب نمونه کنترل در زمان صفر و پس از ۱۲۰ دقیقه زمان گرمخانه‌گذاری می‌باشند (Dapkevicius et al., 1998).

فعالیت ضدقارچی

فعالیت ضدقارچی اسانس انجدان رومی در برابر سویه‌های میکروبی *آلترناریا آلترناتا*[۱]، *پنی‌سیلیوم اکسپانسوم*[۲]، *پنی‌سیلیوم دیجیتاتوم*[۳]، *پنی‌سیلیوم ایتالیکوم*[۴] و *بوتریتیس سینه‌را*[۵] بر اساس روش‌های دیسک دیفیوژن آگار، انتشار چاهک در آگار، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی ارزیابی گردید.

دیسک دیفیوژن آگار: ابتدا دیسک‌های استریل به مدت ۱۵ دقیقه در اسانس گیاه (استریل شده توسط فیلتر غشایی با قطر ۰/۲۲ میکرون) غوطه‌ور شدند. سپس دیسک‌های استریل روی سطح محیط کشت سابروز دکستروز آگار استریل قرار داده شدند. لازم به ذکر است که ابتدا ۱۰۰ میکرولیتر از هر سویه قارچی روی محیط سابروز دکستروز آگار کشت داده شدند. پلیت‌های حاوی سویه قارچی و دیسک به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری گردید و سپس قطر هاله‌های عدم رشد (بر حسب میلی‌متر) به‌عنوان مناطق مهارکننده گزارش شد (Rahmati-Joneidabad and Alizadeh Behbahani, 2021; Alizadeh Behbahani et al., 2012).

انتشار چاهک در آگار: در این روش، ۲۰ میکرولیتر از اسانس استریل به چاهک‌هایی که روی سطح محیط سابروز دکستروز آگار ایجاد شده بودند و از قبل با سویه‌های قارچی بارگذاری شده بود، اضافه گردید. محیط کشت به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید و سپس قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری گردید (Rahmati-Joneidabad and Alizadeh Behbahani, 2021; Kiarsi et al., 2020).

حداقل غلظت مهارکنندگی: در این روش، ۵ میلی‌لیتر از غلظت‌های مختلف اسانس (۴، ۸، ۱۶، ۳۲، ۶۴، ۱۲۸، ۲۵۶ و ۵۱۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) به ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی در لوله‌های آزمایش اضافه گردید. لوله‌های آزمایش به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند و رشد سویه‌های قارچی توسط کدورت ایجاد شده با چشم مشاهده شد و لوله بدون کدورت به‌عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی گزارش گردید (Rahmati-Joneidabad and Alizadeh Behbahani, 2021; Alizadeh Behbahani et al., 2013).

حداقل غلظت کشندگی: برای انجام این آزمون، از لوله‌هایی که در آن‌ها کدورتی مشاهده نشده بود، ۱۰۰ میکرولیتر از محیط کشت برداشته شد و روی سطح محیط کشت سابروز دکستروز آگار کشت داده شد. گرمخانه گذاری مطابق روش بالا تکرار گردید و در نهایت حداقل غلظتی که سبب جلوگیری از رشد سویه‌ها گردید، به‌عنوان حداقل غلظت کشندگی اسانس گزارش شد (Rahmati-Joneidabad and Alizadeh Behbahani, 2021; Alghooneh et al., 2013).

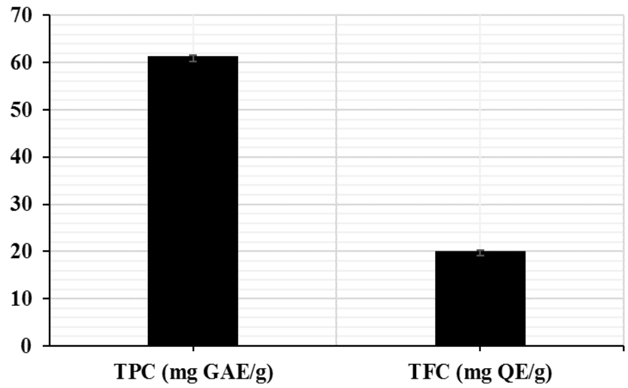
تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

نتایج این پژوهش با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون چنددامنه‌ای دانکن ($p<۰/۰۵$) آنالیز شدند. لازم به ذکر است که آزمایش‌ها در سه تکرار انجام شدند.

1 *Alternaria alternata*
2 *Penicillium expansum*
3 *Penicillium digitatum*
4 *Penicillium italicum*
5 *Botrytis cinerea*

نتایج و بحث

ترکیبات فنولی نقش بسیار مهمی در ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی اسانس و عصاره‌های گیاهی ایفا می‌کنند. اسانس انجدان رومی به‌ترتیب حاوی mg GAE/g ۰/۳۴ ±۶۱/۲۷ و mg QE/g ۰/۲۱ ±۲۰/۱۴ فنول و فلاونوئید تام بود (شکل ۱). Kozłowska و همکاران (۲۰۲۱)، نشان داد که عصاره متانولی انجدان رومی حاوی mg GAE/g ۵۲/۰۱ فنول تام می‌باشد (Kozłowska et al., 2021). در مطالعه دیگر مشخص گردید که عصاره آبی انجدان رومی دارای mg/g ۱۱۸ فنول تام و mg/g ۹۳ فلاونوئید تام می‌باشد، در حالی‌که عصاره اتانولی این گیاه حاوی mg/g ۲۳۳ فنول تام و mg/g ۱۶۳ فلاونوئید تام بود (Spréa et al., 2020). Azizian Shermeh و همکاران (۲۰۱۸) گزارش نمودند که میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی عصاره آبی انجدان رومی به‌ترتیب mg GAE/g ۱۲/۱۷ و mg QE/g ۶۱/۱۲ می‌باشد. تفاوت‌های مشاهده شده در میزان ترکیبات فنولی را می‌توان به روش‌های مختلف استخراج و قسمت‌های گیاهی مورد استفاده برای استخراج اسانس/ عصاره نسبت داد (Azizian Shermeh et al., 2018). علاوه بر این، منشأ، تنوع، بلوغ در هنگام برداشت و کیفیت مواد خام در کنار پیش تیمارها و روش‌های استخراج می‌تواند بر عملکرد و ترکیب اسانس/ عصاره حاصل تأثیر بگذارد (Alizadeh Behbahani et al., 2019).



شکل ۱- محتوای فنول کل (TPC) و فلاونوئید کل (TFC) اسانس انجدان رومی.

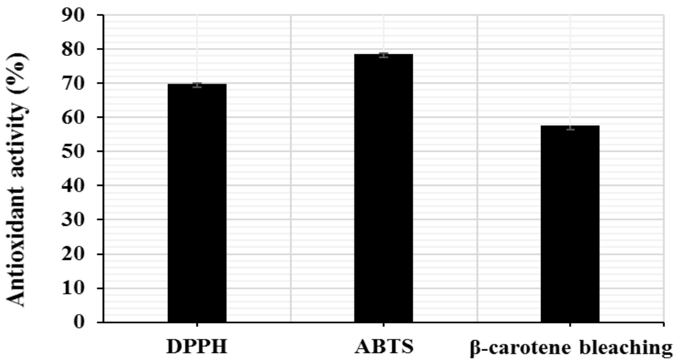
Fig. 1. Total phenolic content (TPC) and total flavonoid content (TFC) of *Levisticum officinale* Koch essential oil.

شکل ۲، نتایج فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس انجدان رومی بر پایه روش‌های مهار رادیکال آزاد DPPH، مهار رادیکال آزاد ABTS و زوال رنگ بتا-کاروتن را نشان می‌دهد. رادیکال آلی نسبتاً پایدار DPPH به طور گسترده برای تعیین پتانسیل آنتی‌اکسیدانی عصاره/ اسانس‌های گیاهی و ترکیبات منفرد استفاده شده است (Alizadeh Behbahani and Shahidi, 2019; Falah et al., 2021). DPPH یک ترکیب شیمیایی با ساختار رادیکال-کروموژن است. ترکیبات آنتی‌اکسیدانی رادیکال DPPH را به مولکول پایدار DPPH-H از طریق اهدای هیدروژن همراه با تغییر رنگ از بنفش به زرد، که می‌تواند به صورت اسپکتروفتومتری در طول‌موج ۵۱۷ نانومتر بررسی شود، تبدیل می‌کند (Nooshkam et al., 2019). اسانس دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی در برابر رادیکال‌های آزاد DPPH بود (۰/۶۵ ±۶۹/۷۲ درصد). این بدان معنی است که اسانس انجدان رومی حاوی ترکیبات زیست فعال با توانایی خنثی کردن رادیکال‌های DPPH از طریق اهداء اتم‌های هیدروژن و الکترون است. روش آنتی‌اکسیدانی بر اساس مهار رادیکال آزاد ABTS مبتنی بر اکسیداسیون مستقیم ABTS توسط پتاسیم پرسولفات است که یک کاتیون رادیکال آزاد پایدار ($ABTS^{•+}$) ایجاد می‌کند. رنگ سبز- آبی محلول $ABTS^{•+}$ در حضور آنتی‌اکسیدان‌ها رنگ‌زدایی می‌شود و شدت رنگ‌زدایی (احیاء) به روش اسپکتروفتومتری با نظارت بر کاهش جذب آن در طول‌موج ۷۳۴ نانومتر ارزیابی می‌شود (Nooshkam et al., 2019). مطابق نتایج، فعالیت اسانس در مهار رادیکال‌های آزاد ABTS بسیار بالا بود (۰/۳ ±۷۸/۵۴ درصد).

حذف اتم هیدروژن از گروه متیلن دی‌الیلیک اسید لینولئیک منجر به تشکیل رادیکال‌های آزاد می‌شود که به نوبه خود به مولکول بتا-کاروتن حمله کرده و تغییر رنگ سریع به دنبال آن رخ می‌دهد. سرعت رنگبری بتاکاروتن در حضور آنتی‌اکسیدان‌ها کاهش می‌یابد که قادر به خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد تولید شده در طی واکنش می‌باشند (Rahmati-Joneidabad and Alizadeh Behbahani, 2021). اسانس انجدان رومی توانست به طور قابل ملاحظه‌ای تغییر رنگ سریع بتا-کاروتن را مانع شود و قدرت مهار رادیکال مناسبی را نشان داد (۰/۴۱ ±۵۷/۵۰ درصد) که احتمالاً از طریق به دام انداختن و خنثی کردن رادیکال‌های آزاد لینولئات می‌باشد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالای

اسانس انجدان رومی عمدتاً به دلیل ترکیبات پلی‌فنولی آن مانند اسیدهای فنولیک و فلاونوئیدها است.

Azizian Shermeh و همکاران (۲۰۱۸) با مقایسه فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های آبی، متانولی و اتانولی گیاه انجدان رومی بر پایه روش مهار رادیکال آزاد DPPH نشان دادند که عصاره متانولی و آبی به‌ترتیب دارای بیشترین و کمترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشند و این اثر به محتوای فنول بالاتر عصاره متانولی نسبت داده شد (Azizian Shermeh et al., 2018). در مطالعه‌ای دیگر مشخص گردید که گیاه انجدان رومی توانایی نسبتاً خوبی در مهار رادیکال‌های آزاد DPPH دارد و قدرت آنتی‌اکسیدانی آن با مقادیر فلاونوئید و فنول مرتبط دانسته شد (Wojdyło et al., 2007). Athari و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی گیاه انجدان رومی وابسته به غلظت می‌باشد و افزایش غلظت عصاره از ۱۰۰ به ۱۰۰۰ ppm سبب افزایش ظرفیت مهار رادیکال آزاد DPPH از ۱۹/۶۴ درصد به ۸۸/۵۹ درصد گردید. علاوه بر این، افزودن عصاره به روغن سویا به‌طور معنی‌داری سبب افزایش پایداری اکسایشی آن گردید (Athari et al., 2020). همچنین، گزارش شده است که عصاره اتانولی گیاه انجدان رومی، بدلیل محتوای ترکیبات فنولی بالاتر، دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری نسبت به عصاره آبی می‌باشد (Spréa et al., 2020).



شکل ۲- فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس انجدان رومی.

Fig. 2- Antioxidant activity of Levisticum officinale Koch essential oil.

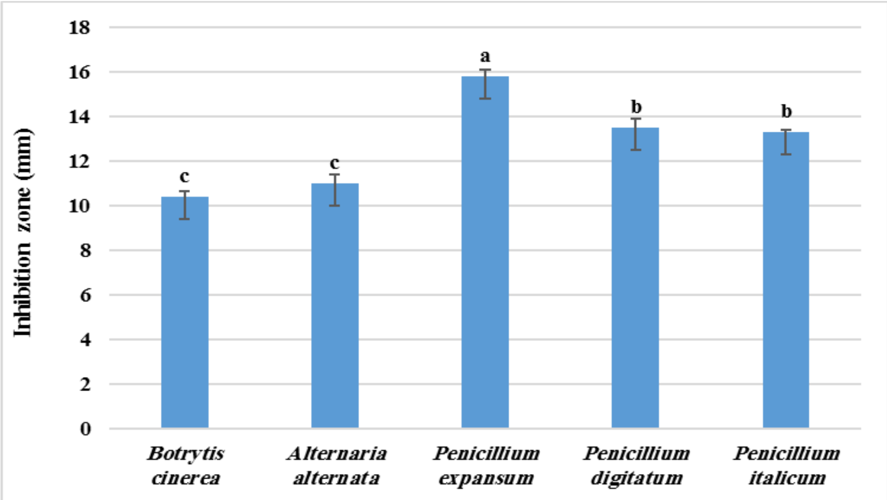
نتایج فعالیت ضدقارچی اسانس انجدان رومی در برابر قارچ‌های عامل پوسیدگی و فساد سیب و پرتقال در شکل‌های ۳، ۴ و ۵ و جدول ۱ ارائه شده است. اسانس انجدان رومی در برابر تمامی گونه‌های قارچی تأثیرگذار بود. مطابق نتایج آزمون دیسک دیفیوژن آگار (شکل ۳)، بالاترین قطر هاله عدم رشد در مورد قارچ *پنی‌سیلیوم اکسپانسوم* مشاهده شد (حساس‌ترین سویه)، در حالیکه قارچ *بوتریتیس سینه را* کمترین قطر هاله عدم رشد را بخود اختصاص داد (مقاوم‌ترین سویه). همچنین، جنس‌های پنی‌سیلیوم نسبت به سایر قارچ‌ها از حساسیت بالاتری در برابر اسانس انجدان رومی برخوردار بودند.

نتایج آزمون چاهک آگار نیز مشابه روش دیسک دیفیوژن آگار بود (شکل ۴) و *پنی‌سیلیوم اکسپانسوم* و *بوتریتیس سینه* به‌ترتیب حساس‌ترین و مقاوم‌ترین سویه‌ها نسبت به اسانس بودند. لازم به ذکر است که قطر هاله‌های عدم رشد در آزمون چاهک آگار بالاتر از دیسک دیفیوژن آگار بود. این حالت عمدتاً به دلیل تماس مستقیم اسانس و باکتری در آزمون چاهک آگار است؛ اما در آزمایش ضدمیکروبی دیسک دیفیوژن آگار، اسانس باید از طریق دیسک‌ها در محیط کشت پخش شود تا اثر بازدارندگی خود را اعمال کند (Alizadeh Behbahani et al., 2019). نتایج آزمون حداقل غلظت مهارکنندگی نشان داد که اثر ضدقارچی اسانس وابسته به غلظت می‌باشد (جدول ۱). تمامی سویه‌های قارچی در حضور غلظت پایین اسانس (۴ mg/ml) قادر به رشد بودند. به استثناء *پنی‌سیلیوم اکپانسوم*، سویه‌های قارچی درگیر قادر به رشد در غلظت ۵ mg/ml اسانس بودند. با اینحال، غلظت‌های بالاتر اسانس (< ۸ mg/ml) سبب جلوگیری از رشد سویه‌های قارچی گردید، به استثناء بوتریتیس سینه را که قادر به رشد در حضور غلظت mg/ml ۱۶ اسانس بود که بیانگر مقاومت بالای این سویه در برابر اسانس می‌باشد. نتایج آزمون حداقل غلظت‌کشندگی نیز نشان داد که *پنی‌سیلیوم اکپانسوم* در حضور غلظت کمتری از اسانس غیرفعال می‌گردد (شکل ۵).

فعالیت ضدباکتریایی اسانس انجدان رومی در مطالعات مختلف بررسی شده است (Miran et al., 2018a; Miran et al., 2018b). با این‌حال اطلاعات محدودی در مورد اثر ضدقارچی آن موجود می‌باشد. در مطالعه صورت گرفته توسط Shafaghat (۲۰۱۱)، فعالیت ضدمیکروبی عصاره (هگزان) میوه و ریشه گیاه انجدان رومی در برابر ۳ قارچ (*کاندیدا آلبیکنس*، *آسپرژیلوس نایجر* و *ساکارومایسس سرویزیه*) مطابق روش دیسک دیفیوژن آگار بررسی گردید و نتایج نشان داد که عصاره دارای اثر ضدقارچی در برابر سویه‌های *کاندیدا آلبیکنس* و

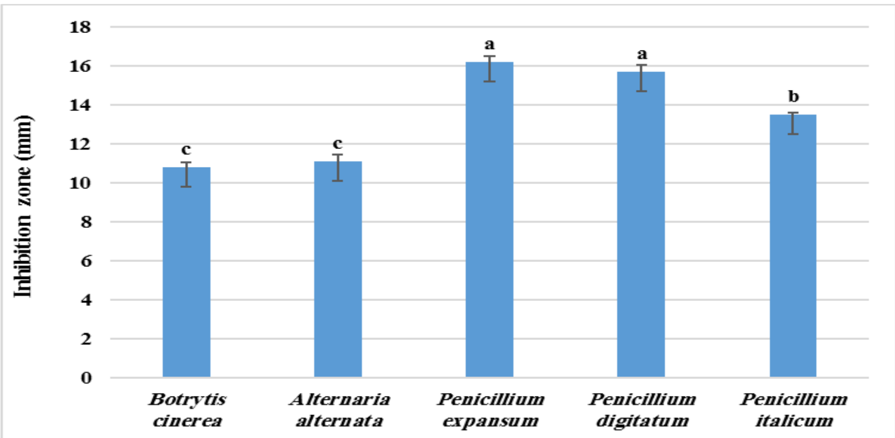
ساکارومایسس سرویزیه می‌باشد. این محققان اثر ضدمیکروبی را به حضور اسیدهای چرب و ترکیبات ترپنوئیدی در عصاره نسبت دادند (Shafaghat, 2011). Chaudhari و همکاران (۲۰۲۱)، فعالیت ضدقارچی اسانس انجدان رومی را علیه رشد قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* و تولید آفلاتوکسین بررسی نمودند. نتایج این محققین نشان داد که اسانس انجدان رومی قادر به جلوگیری از تولید ارگوسترول (استرول اصلی دیواره قارچها مسئول تنظیم سیالیت و یکپارچگی غشاء)، افزایش نشت یون‌های سلولی و تخریب نفوذپذیری غشاء می‌باشد که از این طریق سبب جلوگیری از رشد قارچ و تولید افلاتوکسین می‌شود (Chaudhari et al., 2021).

علاوه بر این، Ciocarlan و همکاران (۲۰۱۸) بیان نمودند که اثر ضدقارچی اسانس انجدان رومی علیه *کاندیدا یوتیلیس* می‌تواند ناشی از حضور ترکیبات بتا-فلاندرن، آلفا-ترپنیل استات و لیگوستیلید در اسانس باشد که از طریق تخریب دیواره سلولی و غشاء سیتوپلاسمی، کاهش سیتوپلاسم اطراف هسته، مختل کردن عملکرد چربی غشاء پلاسمایی و در نتیجه تغییر نفوذپذیری و نشت ترکیبات درون سلولی، سبب جلوگیری از رشد سویه‌های میکروبی می‌شود (Ciocarlan et al., 2018). لازم به ذکر است که به علت ماهیت آبگریز، اسانس‌های گیاهی قادر به نفوذ در میسلیوم قارچ و جلوگیری از رشد آن می‌باشند. با این‌حال، به دلیل حضور ترکیبات مختلف در اسانس‌های گیاهی، مکانیسم دقیقی در ارتباط با اثر ضدقارچی آن‌ها وجود ندارد؛ بنظر می‌رسد بعضی از این ترکیبات قادر به افزایش نفوذپذیری و تخریب غشاء و بعضی قادر به کاهش اندازه قارچ و اصلاح مورفولوژی سلولی می‌باشند (Rahmati-Joneidabad and Alizadeh Behbahani, 2021).



شکل ۳- فعالیت ضد قارچی اسانس انجدان رومی بر اساس روش دیسک دیفیوژن آگار.

Fig. 3. Antifungal activity of *Levisticum officinale* Koch essential oil based on agar disk diffusion method.



شکل ٤- فعالیت ضد قارچی اسانس انجدان رومی بر اساس روش چاهک آگار.

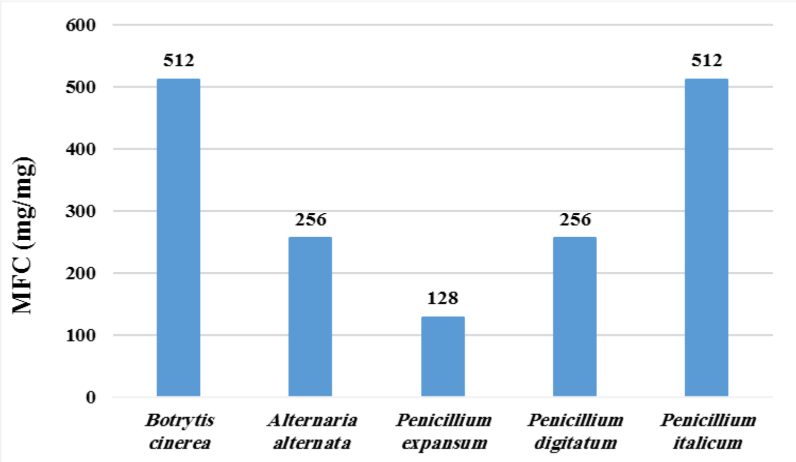
Fig. 4. Antifungal activity of *Levisticum officinale* Koch essential oil based on agar well diffusion method.

جدول ۱- نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (MIC) اسانس انجدان رومی به روش ماکرودایلوشن براث

Table 1- The results of minimum inhibitory concentration (MIC) of *Levisticum officinale* Koch essential oil by broth macrodilution method

Levisticum officinale Koch essential oil concentration (mg/ml)									
Control	512	256	128	64	32	16	8	4	Microorganism
–	–	–	–	–	–	+	+	+	*Botrytis cinerea*
–	–	–	–	–	–	–	+	+	*Alternaria alternate*
–	–	–	–	–	–	–	–	+	*Penicillium expansum*
–	–	–	–	–	–	–	+	+	*Penicillium digitatum*
–	–	–	–	–	–	–	+	+	*Penicillium italicum*

Growth: (+) No growth: (-)



شکل ۵- فعالیت ضدقارچی اسانس انجدان رومی بر اساس روش حداقل غلظت کشندگی.

Fig. 5. Antifungal activity of *Levisticum officinale* Koch essential oil based on the minimum fungicidal concentration (MFC).

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که اسانس گیاه انجدان رومی از اثر ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی خوبی برخوردار است و با شناسایی نوع ترکیبات موثره این گیاه می‌توان مطالعات جامع‌تری در مورد اثرات ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی آن انجام داد. اسانس انجدان رومی قادر به مهار رادیکال‌های آزاد و جلوگیری از رشد قارچ‌های عامل فاسد و پوسیدگی سیب و پرتقال (*آلترناریا آلترناتا*، *پنی‌سیلیوم اکسپانسوم*، *پنی سیلیوم دیجیتاتوم*، *پنی‌سیلیوم ایتالیکوم* و *بوتریتیس سینه‌را*) در شرایط برون‌تنی بود. بنابراین، اسانس این گیاه می‌تواند کاندید خوبی جهت درمان بیماری‌های ناشی از استرس‌های اکسیداتیو و جلوگیری از بیماری‌های پس از برداشت میوه‌ها و سبزیجات باشد. در تحقیقات آتی می‌توان اثرات سینرژیستی اسانس انجدان رومی را با نگهدارنده‌ها یا اسانس‌های دیگر گیاهان دارویی بررسی و مقایسه نمود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان به دلیل حمایت‌های مادی و معنوی صمیمانه تشکر و قدردانی نمایند.

منابع

1. Alghooneh, A., Alizadeh Behbahani, B., Noorbakhsh, H., & Yazdi, F. T. (2015). Application of intelligent modeling to predict the population dynamics of Pseudomonas aeruginosa in Frankfurter sausage containing *Satureja bachtiarica* extracts. *Microbial pathogenesis*, *85*, 58-65. https://doi.org/10.1016/j.micpath.2015.06.003

2. Alizadeh Behbahani, B., & Shahidi, F. (2019). Melissa officinalis essential oil: Chemical compositions, antioxidant potential, total phenolic content and antimicrobial activity. *Nutrition and Food Sciences Research, 6*(1), 17-25 . DOI: 10.29252/nfsr.6.1.17
3. Alizadeh Behbahani, B., Noshad, M., & Falah, F. (2019). Study of chemical structure, antimicrobial, cytotoxic and mechanism of action of *Syzygium aromaticum* essential oil on foodborne pathogens. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences, 13*(1), 875-883.
4. Alizadeh Behbahani, B., Shahidi, F., Yazdi, F. T., & Mohebbi, M. (2013). Antifungal effect of aqueous and ethanolic mangrove plant extract on pathogenic fungus" in vitro". *International Journal of Agronomy and Plant Production, 4*(7), 1652-1658.
5. Alizadeh Behbahani, B., Tabatabaei Yazdi, F., Shahidi, F., & Mohebbi, M. (2012). Antimicrobial activity of *Avicennia marina* extracts ethanol, methanol & glycerin against *Penicillium digitatum* (citrus green mold). *Scientific Journal of Microbiology, 1*(7), 147-151.
6. Athari, M., Elhami Rad, A .H., Nemat Shahi, M. M., & Nemat Shahi, N. (2020). Study of antioxidant properties of leaf extract of *Levyticum Officinale* and its effect on soybean oil stability in storage conditions. *Journal of Innovation in Food Science and Technology, 12*(4), 192-179.
7. Azizian Shermeh, O., Taherizadeh, M., Valizadeh, M., & Qasemi, A. (2018). Antimicrobial and antioxidant activities and determining phenolic and flavonoid contents of the extracts of five species from different families of the medicinal plants grown in Sistan and Baluchestan province. *Journal of Advanced Biomedical Sciences, 7*(4), 465-479 .
8. Barzegar, H., Alizadeh Behbahani, B., & Mehrnia, M. A. (2020). Quality retention and shelf life extension of fresh beef using *Lepidium sativum* seed mucilage-based edible coating containing *Heracleum lasiopetalum* essential oil: an experimental and modeling study. *Food Science and Biotechnology, 29*(5), 717-728 . https://doi.org/10.1007/s10068-019-00715-4
9. Chaudhari, A. K., Das, S., Singh, V. K., Prasad, J., & Dubey, N. K. (2021). Assessing the *Levisticum officinale* Koch. essential oil as a novel preservative for stored chia seeds (*Salvia hispanica* L.) with emphasis on probable mechanism of action. *Environmental Science and Pollution Research*, 1-16. https://doi.org/10.1007/s11356-021-14985-1
10. Chien, P. J., & Chou, C. C. (2006). Antifungal activity of chitosan and its application to control post-harvest quality and fungal rotting of Tankan citrus fruit (*Citrus tankan Hayata*). *Journal of the Science of Food and Agriculture, 86*(12), 1964-1969. https://doi.org/10.1002/jsfa.2570
11. Ciocarlan, A., Dragalin, I., Aricu, A., Lupaşcu, L., Ciocarlan, N., & Popescu, V. (2018). Chemical composition and antimicrobial activity of the *Levisticum officinale* WDJ Koch essential oil. *Chemistry Journal of Moldova, 13*(2), 63-68 .
12. Dapkevicius, A., Venskutonis, R., van Beek, T. A., & Linssen, J. P. (1998). Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in Lithuania. *Journal of the Science of Food and Agriculture, 77*(1), 140-146. https://doi.org/10.19261/cjm.2018.514
13. Falah, F., Shirani, K., Vasiee, A., Yazdi, F. T., & Behbahani, B. A. (2021). In vitro screening of phytochemicals, antioxidant, antimicrobial, and cytotoxic activity of *Echinops setifer* extract. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 35*, 102102. https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.102102
14. Ghadimi, S., Heshmati, A., Shafa, M. A., & Nooshkam, M. (2016). Microbial quality and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* Isolated from traditional ice cream in Hamadan city, West of Iran. *Avicenna Journal of Clinical Microbiology and Infection, 4*(1), 39781-3978.
15. Jakubczyk, A., Złotek, U., Szymanowska, U., Rybczyńska-Tkaczyk, K., Jęderka, K., & Lewicki, S. (2020). In vitro antioxidant, anti-inflammatory, anti-metabolic syndrome, antimicrobial, and anticancer effect of phenolic acids isolated from fresh Lovage Leaves [*Levisticum officinale* Koch] Elicited with Jasmonic Acid and Yeast Extract. *Antioxidants, 9*(6), 554. https://doi.org/10.3390/antiox9060554
16. Kiarsi, Z., Hojjati, M., Behbahani, B. A., & Noshad, M. (2020). In vitro antimicrobial effects of Myristica fragrans essential oil on foodborne pathogens and its influence on beef quality during refrigerated storage. *Journal of Food Safety, 40*(3), 12782. https://doi.org/10.1111/jfs.12782
17. Kozłowska, M., Ścibisz, I., Przybył, J., Ziarno, M., Żbikowska, A., & Majewska, E. (2021). Phenolic contents and antioxidant activity of extracts of selected fresh and dried herbal materials. *Pol. J. Food Nutr. Sci, 71*, 269-278.
18. Miran, M., Feizabadi, M. M., Kazemian, H., Kardan-Yamchi, J., Monsef-Esfahani, H. R., & Ebrahimi, S. N. (2018). The activity of Levisticum officinale WDJ Koch essential oil against multidrug-resistant *Mycobacterium tuberclosis* . *Iranian journal of microbiology, 10*(6), 394 .
19. Miran, M., Monsef Esfahani, H., Moridi Farimani, M., Ahmadi, A. A., & Ebrahimi, S. N. (2018). Essential oil composition and antibacterial activity of Levisticum officinale Koch at different developmental stages. *Journal of Essential Oil Bearing Plants, 21*(4), 1051-1055. https://doi.org/10.1080/0972060X.2018.1507759

20. Nikkhah, M., Habibi NAjafi, M., Hashemi, M., & Farhoosh, R. (2019). Antifungal activity and synergistic effects of thyme, cinnamon, rosemary and marjoram essential oils in combination, against apple rot fungi. *Journal of Food Research, 29*(1), 43-54.
21. Nooshkam, M., Varidi, M., & Bashash, M. (2019). The Maillard reaction products as food-born antioxidant and antibrowning agents in model and real food systems. *Food chemistry*, *275*, 644-660. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.083
22. Noshad, M., Alizadeh Behbahani, B., Jooyandeh, H., Rahmati-Joneidabad, M., Hemmati Kaykha, M. E., & Ghodsi Sheikhjan, M. (2021). Utilization of Plantago major seed mucilage containing Citrus limon essential oil as an edible coating to improve shelf-life of buffalo meat under refrigeration conditions. *Food Science & Nutrition, 9*(3), 1625-1639 .
23. Pires, S. M., Desta, B. N., Mughini-Gras, L., Mmbaga, B. T., Fayemi, O. E., Salvador, E. M., . . . Hoejskov, P. S. (2021). Burden of foodborne diseases: think global ,act local. *Current Opinion in Food Science*. https://doi.org/10.1016/j.cofs.2021.01.006
24. Rahmati-Joneidabad, M., & Alizadeh Behbahani, B. (2021). Identification of chemical compounds, antioxidant potential, and antifungal activity of Thymus daenensis essential oil against spoilage fungi causing apple rot. *Iranian Food Science and Technology Research, 17*(5), 691-700.
25. Rossi, Y. E., & Palacios, S. M. (2013). Fumigant toxicity of Citrus sinensis essential oil on Musca domestica L. adults in the absence and presence of a P450 inhibitor. *Acta tropica*, *127*(1), 33-37. https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2013.03.009
26. Shafaghat, A. (2011). Chemical constituents, antimicrobial and antioxidant activity of the hexane extract from root and seed of Levisticum persicum Freyn and Bornm. *Journal of Medicinal Plants Research, 5*(20), 5127-5131.
27. Spréa, R. M., Fernandes, Â., Calhelha, R. C., Pereira, C., Pires, T. C., Alves, M. J., . . . Ferreira, I. C. (2020). Chemical and bioactive characterization of the aromatic plant *Levisticum officinale* WDJ Koch: A comprehensive study. *Food & function, 11*(2), 1292-1303. https://doi.org/10.1039/C9FO02841B
28. Tejeswini, M. G., Sowmya, H. V., Swarnalatha, S. P., & Negi, P. S. (2014). Antifungal activity of essential oils and their combinations in in vitro and in vivo conditions. *Archives of Phytopathology and Plant Protection, 47*(5), 564-570. https://doi.org/10.1080/03235408.2013.814235
29. Vehapi, M., Koçer, A. T., Yılmaz, A., & Özçimen, D. (2020). Investigation of the antifungal effects of algal extracts on apple-infecting fungi. *Archives of microbiology*, *202*(3), 455-471. https://doi.org/10.1007/s00203-019-01760-7
30. Wojdyło, A., Oszmiański, J., & Czemerys, R. (2007). Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food chemistry, 105*(3), 940-949. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.04.038
31. Yeganegi, M., Yazdi, F. T., Mortazavi, S. A., Asili, J., Alizadeh Behbahani, B., & Beigbabaei, A. (2018). Equisetum telmateia extracts: Chemical compositions, antioxidant activity and antimicrobial effect on the growth of some pathogenic strain causing poisoning and infection. *Microbial pathogenesis*, *116*, 62-67. https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.01.014